

令和6年度 新人サポート研修会
臨床微生物部門

微生物検査について

検体の取り扱いについて

検体の取り扱いには十分に注意を払う！！

全ての患者検体において感染性があるものとして対応する。

- ・ 血液（血液培養ボトル・膿）
- ・ 体腔液など（胸水・腹水）
- ・ 分泌液など（粘液）
- ・ 排泄物（糞便・尿）

適切な個人防具を適切な使用法で
(Personal Protective Equipment: PPE)

- ・ 手袋
- ・ マスク
- ・ エプロン
- ・ ゴーグル(フェイスシールド)



病原体(細菌・ウイルス)の感染・伝播リスクを減少させる

微生物検査の目的

- ・ 感染症の診断
(原因菌をつきとめて、対策を考える！)
- ・ 感染症の治療
(使用している薬は効いているか?)
- ・ 感染症の予防
(耐性菌の監視や病原菌の保菌確認)

微生物検査の過程

- ① 検体採取
- ② 検体の輸送・保存
- ③ 検体に合った検査方法
(培養・同定・薬剤感受性検査など)

どれかひとつでも誤りがあると、
正しい結果は得ることができません！

適切な検査が行われなかった場合

- ・ 起因微生物の検出が困難になる
- ・ 誤った検査結果を導くものになる
- ・ 間違った感染症治療が行われる

検体採取・取扱いにおける一般的な注意事項

- ① 採取時期
- ② 抗菌薬投与中の患者からの採取
- ③ 常在菌の混入
- ④ 検体の乾燥を避ける
- ⑤ 嫌気性菌の存在を疑う場合
- ⑥ 室温放置は厳禁！
- ⑦ 適切な検体採取容器

微生物検査に用いられる採取容器

- ・ 蓋がしっかりと閉められる容器(スクリューキャップ付き)
- ・ 密閉状態を保てる容器
(検体の流出を防ぐ, 容器内の温度を保つ)
- ・ 滅菌済み容器(コンタミネーション防止)
- ・ シャーレで提出する場合は, パラフィルムをしっかりと巻く
- ・ **嫌気性菌を疑う場合は, 専用容器**に採取
- ・ 栄養要求の強い菌を目的とする場合は, **保存培地の入った容器**を用いる
- ・ 微量な検体は, 目的とする培地に直接接種する

スクリューキャップ付き容器 嫌気性菌専用 保存培地付き綿棒



滅菌スピッツ

嫌気ポーター

シードスワブ

嫌気性菌専用容器:嫌気ポーター

嫌気性菌の感染症を疑う時に使用する

⇒酸素に触れると死滅

嫌気性菌感染症を疑うポイント

- ・ 非開放性の膿瘍(肺, 脳, 皮下など)
- ・ 腹腔内感染症
- ・ **悪臭**のある膿性検体



○嫌気状態

×酸素が混入

取り扱う検体の種類

取り扱う検体の種類

- ・ 血液
- ・ 髄液
- ・ 間接液
- ・ 穿刺液
- ・ 膿
- ・ 尿
- ・ 喀痰
- ・ 糞便など

基本は無菌

採取部位などで菌の有無が変わる

通常菌がいる

菌の検出=感染の可能性が高い!!

細菌が出てても病原性の高い菌以外は臨床と合わせて判断が必要な場合がある。

検体の保存方法

保存方法

滅菌容器を使う!

- ・ 原則, 24時間以内であれば, **冷蔵保存(4℃)**
- ・ ただし,

血液培養ボトル, 髄液, 尿道分泌物などは例外!

① 血液

材料	採取容器	保存法	備考
静脈血 動脈血	血液培養ボトル	採取後、速やかに検査室へ輸送し、機械にセット	<ul style="list-style-type: none"> 冷蔵保存は不可 長時間の室温放置は不適



好気 嫌気 小児用



血液培養ボトルを放置してませんか？



血液培養検査ガイドライン
「可及的速やかに、できれば2時間以内に自動機器に装填する必要がある」

機械に入れてから、測定開始です！

② 髄液・尿道分泌物など



材料	備考
髄液 穿刺液 尿 尿道分泌物	<ul style="list-style-type: none"> 髄膜炎菌、淋菌を検査する場合、冷蔵保存は不可
血管カテーテル (IVHなど) シャントチューブ ドレーンチューブ	<ul style="list-style-type: none"> 乾燥を防ぐため、滅菌生理食塩水を少量添加する 採取後速やかに検査を実施する。



③ 糞便検体

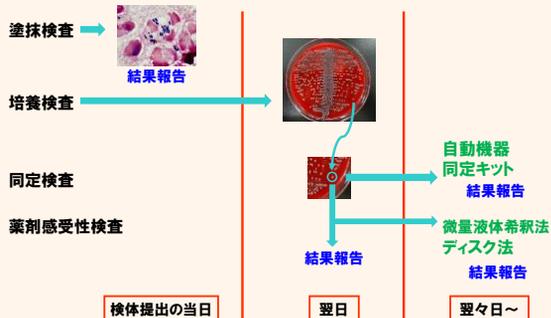
材料	採取容器	保存法	備考
糞便	採便カップ	冷蔵	<ul style="list-style-type: none"> 綿棒による採取はできるだけ避ける(検出感度が低下！) 赤痢アメーバは直ちに検査 C. difficileのトキシン毒素検査は綿棒による採取検体は不可

海外渡航者はその旨を明記してもら



可能な限り直接採取は避けてもら

細菌検査のワークフロー ～検体到着から結果報告まで～



より早く病原体を検出するために

- 起因菌となる微生物に対する検査
 - 細菌: グラム染色、イムノクロマト法、PCR法
 - 真菌: β-D-グルカン、カンジダマンナン抗原
 - ウイルス: イムノクロマト法、PCR法

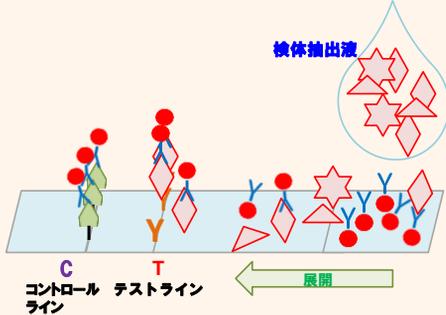
感染症検査の POCT(Point of Care Testing)

インフルエンザウイルス	発熱・頭痛・筋肉痛などが突然現われ、咳・鼻汁などの上気道炎症状が続く
RSウイルス	軽い風邪様の症状から重い肺炎まで起こす
アデノウイルス	咽頭扁桃炎と結膜炎 別名：プール熱
A群溶連菌	乳幼児では咽頭炎、年長児や成人では扁桃炎が現れ、猩紅熱といわれる全身症状を呈することも
マイコプラズマ	肺炎
ヒトメタニューモウイルス	RSウイルス感染症と似ている
コロナウイルス(抗原)	呼吸困難、(倦怠感)、高熱等、発熱、咳

感染症検査の POCT(Point of Care Testing)

尿中肺炎球菌抗原	肺炎・髄膜炎の起因菌となる
尿中レジオネラ抗原	治療抗生薬が通常の肺炎と異なる (<i>Legionella pneumophila</i> 血清型1のみ検出)
ノロウイルス	胃腸炎
ロタウイルス	胃腸炎 乳幼児期(0~6歳ころ)にかかりやすい
Clostridium difficile(CD)トキシン検出検査	偽膜性腸炎 (院内の下痢では培養よりCDトキシンが有用)

イムノクロマト法の原理



テストプレートの外観と各部の名称



検出率を良くするために

- 検体の選択(咽頭? 鼻腔?)
- 採取時期
- 採取手技 (最も検査結果に影響する)
- 検査手技(検体抽出液への抽出、滴下)
- 非特異反応・偽陽性・偽陰性がある
- 検出限界

細菌検査のワークフロー ～検体到着から結果報告まで～



グラム染色の種類と方法

	Huckerの変法	Bartholomew & Mitter法 (ハーミー法)	西岡の方法 (フェイバー法)
固定	メタノール固定1~2分または 火炎固定 → 乾燥		
1次染色	1%シュウ酸アンモニウム・ クリスタル紫水溶液 30~60秒	1~2%のクリスタル紫水溶液 + 5%炭酸水素ナトリウム水溶液 を数滴 30秒	シュウ酸アンモニア加 ビクトリア青液 30~60秒
	水洗		
媒染	ルゴール液 1分	水酸化ナトリウム加ヨウ素溶液 30秒	20%ピクリン酸・エタノール 数秒~30秒 (媒染・分別を同時に行う)
	水洗		
分別	エタノール 5~10秒脱色	エタノール・アセトン混合液 数秒~30秒間脱色	
	水洗		
後染色	サフラン液 60秒	バイフェル液 数秒	サフラン液 60秒 または バイフェル液 10~20秒
	水洗 → 乾燥		

染色性と形態

	グラム陽性	グラム陰性
球菌	<p>双球菌 連鎖状 ブドウ状 (ブドウ球菌・連鎖球菌)</p>	<p>双球菌 (淋菌・モラクセラ)</p>
桿菌	<p>(乳酸菌・セレウス菌)</p>	<p>小桿菌 (大腸菌・その他腸内細菌)</p>

グラム染色の利点と欠点

利点

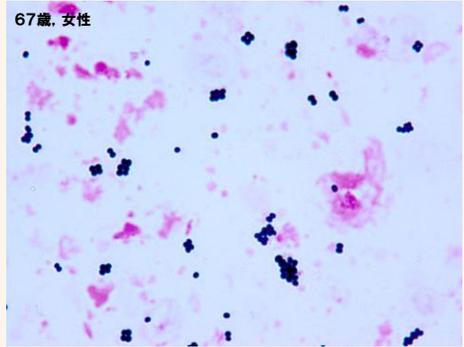
- ・ 迅速検査として有用: 所要時間は約30分
- ・ 提出した日に狙う菌が分かり抗菌薬の選択に繋がる
- ・ 治療効果の判定に役立つ: 起因菌の減少・消失
- ・ 安価である

欠点

- ・ 菌数に検出限界($\geq 10^5/ml$)が検出可能)
- ・ 鏡検に熟練を要する(菌種の推定, 結果の解釈など)
- ・ 難染性の微生物の存在(結核菌, レジオネラ)
- ・ 検出不可能な微生物(マイコプラズマ, リケッチアなど)

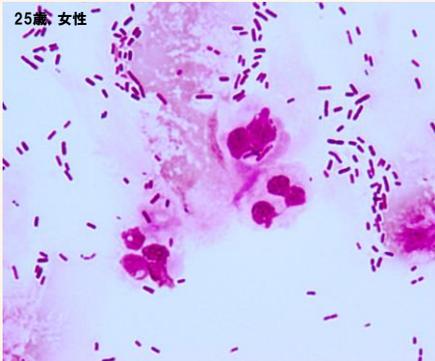
症例: 血液培養

67歳, 女性



症例: 尿

25歳, 女性



喀痰

肉眼的品質管理: Miller&Jonesの分類

分類	性状
M1	唾液, 完全な粘性痰
M2	粘性痰の中に膿性痰が少量含まれる
P1	膿性痰で膿性部分が1/3以下
P2	膿性痰で膿性部分が1/3~2/3
P3	膿性痰で膿性部分が2/3以上

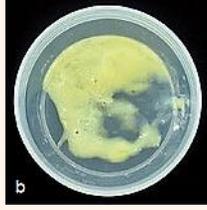
膿性痰(P1~P3) = 高率に原因菌が検出される

※微生物検査は 採取検体の良否が検査結果に大きな影響を与える！！

検査に適した喀痰はどっち？



M1



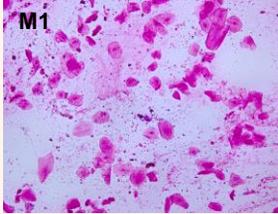
P3

鏡検による品質管理:Gecklerの分類

グループ	100倍で鏡検	
	好中球	扁平上皮細胞
1群	<10	>25
2群	10~25	>25
3群	>25	>25
○4群	>25	10~25
◎5群	>25	<10
6群	<25	<25

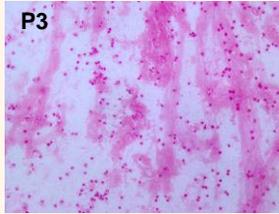
グラム染色像(バーミー法, 100倍)

Geckler 1群



M1

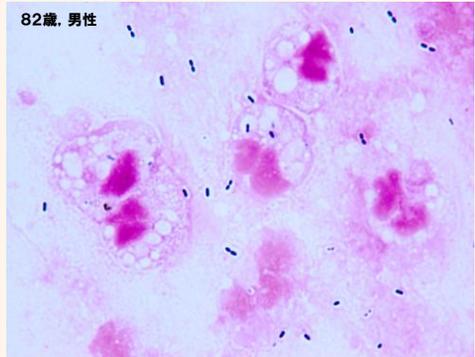
Geckler 5群



P3

症例: 喀痰

82歳, 男性



グラム染色の鏡検に重要な情報

- **患者情報・背景**
(性別・年齢, 海外渡航歴, 病名, 抗菌薬 など)
- **検体の種類や採取部位**
- **検体の外観**
(膿性, 混濁 → 感染の存在を示唆)

有益な情報を提供するためには・・・

- 感染症検査に適した検体であること
- 検体が採取直後で新鮮であること
- 鏡検所見から洞察する知識と技量があること

まとめ

- 微生物検査は、感染症の診断・治療に重要な検査です。
- 「検体採取」、「輸送・保存」、「検査」どれかひとつでも不適切だと正しい結果が得られません。
- 微生物検査は検体採取から始まります。
「適切なタイミング」と「質の良い検体」
- 「知識」、「技術」、そして「経験」
- 日々の診療に“役立つ”結果を報告する努力をしましょう。